اسم المحاضرة : تركيب الـ DNA

رقم المحاضرة : الثانية

المصادر :

1- **Watson, J.D.; Baker, T.A,; Bell, S.P.; Gann, A. (2004). Molecular Biology of the Gene. 5th Ed. Pearson edution.**
2- **Clark, D. (2006). Molecular Biology Understanding the Genetic Revolution. Elsevier Inc.**
3- **Santos, D.M. (2011). Genetic Engineering, Recent Developments in application. Apple Academic press.**

٤ـعماش، هدى صالح مهدي.(١٩٩٤). مبادئ علم الحياة الجزيئي. كلية العلوم . جامعة بغداد.

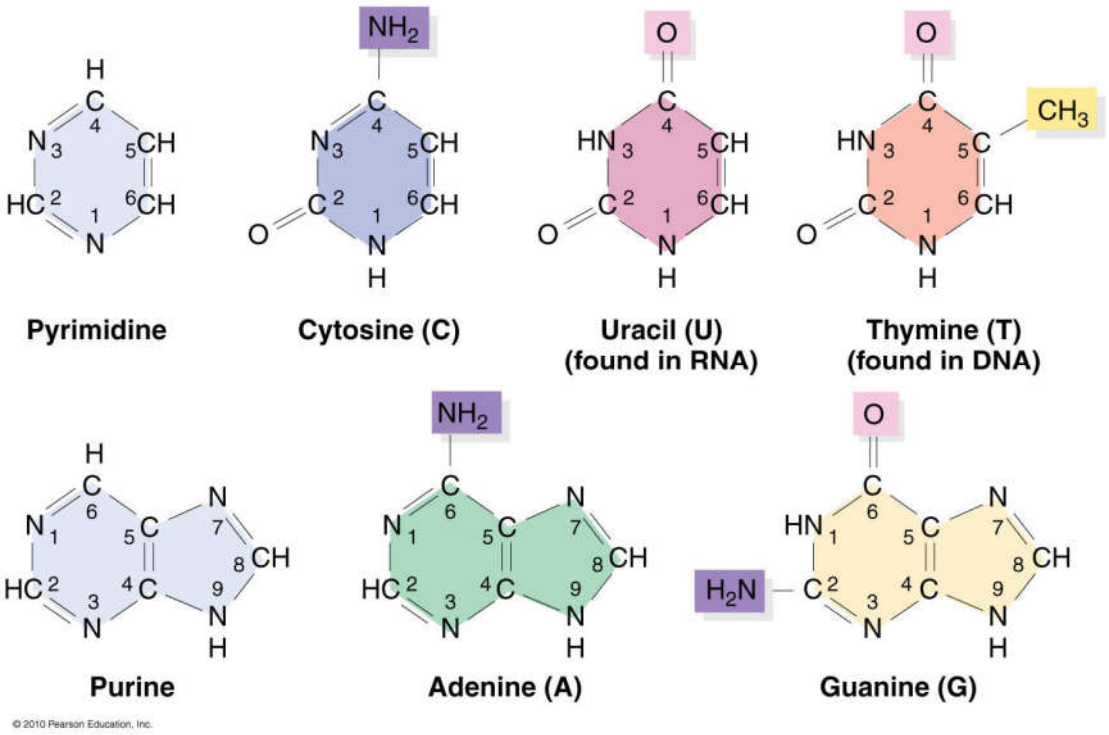
٥ـالبكري ، غالب حمزة.(١٩٩٠). مبادئ الهندسة الوراثية. جامعة البصرة.

بناء الدنا DNA Structure

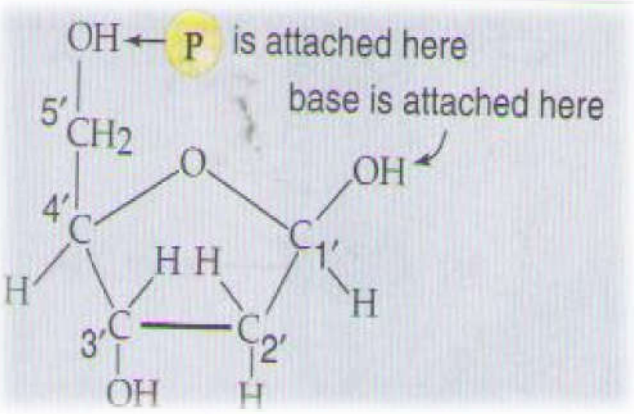
الحامض النووي الـ DNA عبارة عن سلسلة طويلة من الوحدات البنائية المسماة بالنيوكليوتيدات Nucleotides . تتكون كل نيوكليوتيدة من سكر خماسي رايبوزي منقوص الأوكسجين مرتبط بمجموعة فوسفات وقاعدة نيتروجينية. علما ان تسلسل القواعد النتيتروجينية في شريط الدنا هو الذي يحدد الطبيعة الوراثية المميزة لهذه الجزيئة ، تعود القواعد النتيتروجينية التي ادخل في تركيب الاحماض النووية الى مجموعتين رئيسيتين هما :-

١- البيورينات Purines وتشمل الادنين (**A**) Adenine و الكوانين (**G**) Guanine

٢- البيريميدينات Pyrimidines وتشمل السايتوسين (**C**) Cytocine و الثايمين Thymine (**T**)و اليوراسيل (**U**) Uracile



ترتبط البيورينات والبيريمدينات مع السكر الخماسي عن طريق اواصر كلايكوسيلية تتكون بين ذرة الكاربون رقم ١ للسكر الخماسي وذرة النيتروجين رقم ١ للبيريميدينات او ذرة النيتروجين رقم ٩ للبيورينات . تدعى الجزيئة الناتجة عن هذا الارتباط بالنيوكليوسايد Nucleoside .



ترتبط النيوكليوسيدة مع مجموعة الفوسفات لتكون الوحدة البنائية للأحماض النووية وهي النيوكليوتيدة Nucleotide . ترتبط النيوكليوتيدات المكونة للحامض النووي عن طريق أواصر كيميائية تتكون بين مجموعة الفوسفات المرتبطة مع ذرة الكاربون الخامسة للسكر الخماسي مع ذرة الكاربون الثالثة للسكر الخماسي للنيوكليوتيدة التالية وبهذا تتكون سلسلة من الأواصر القوية التي تدعى بالأواصر الفوسفاتية ثنائية الايستر Phosphodiester bond.

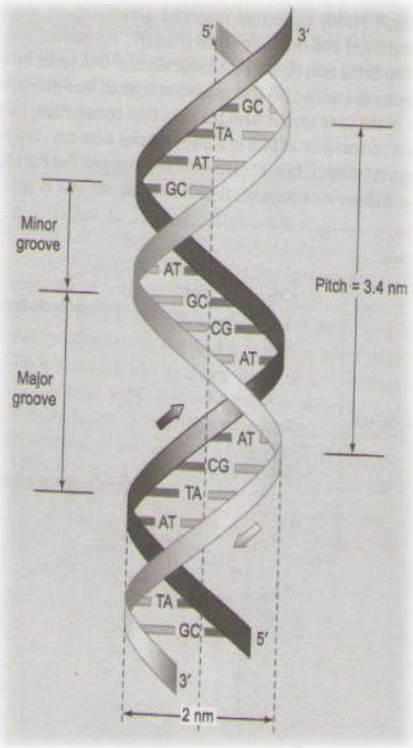
يكون السكر الخماسي ومجموعة الفوسفات العمود الفقري لسلسلة الدنا ، في حين تبرز القواعد النيتروجينية من هذا العمود الفقري الى الداخل وتكون مرتبة واحدة فوق الاخرى. ان طريقة ارتباط النيوكليوتيدات بواسطة الاواصر الفوسفاتية ثنائية الايستر يعطي لسلسلة الدنا صفة القطبية حيث يحمل احد طرفي السلسلة مجموعة فوسفات مرتبطة بذرة الكاربون رقم ٥ (5-P') للسكر الخماسي في حين يحمل الطرق الاخر مجموعة هيدروكسيل مرتبطة مع ذرة الكاربون رقم ٣ (3-OH') للسكر الخماسي .

نموذج الحلزون المزدوج لجزئية الدنا Double helical structure of DNA

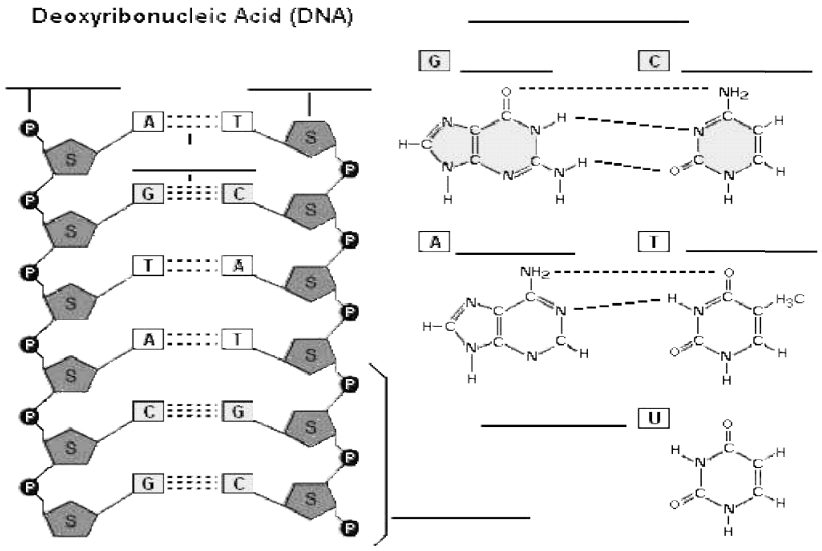
أوضح واطسن وكريك لأول مرة عام ١٩٥٣ التركيب الحلزوني المزدوج للدنا، اذ وجد العالمان من خلال دراستهما ان الدنا يتكون من سلسلتين متكاملتين تلتقيان مع بعضهما ليكونا حلزوناً مزدوجا منتظماً يبلغ قطره ٢٠ انكستروم، يشكل السكر الخماسي ومجموعة الفوسفات الجزء الخارجي في حين تبرز القواعد النيتروجينية الى الداخل وبمستوى عمودي على محور الحلزون ، وان المسافة الفاصلة بين قاعدة نيتروجينية وقاعدة اخرى يبلغ 3.4 انكستروم وان طول اللفة الواحدة للحلزون يبلغ 34 انكستروم واللفة الواحدة للخيط تكون مؤلفة من ١٠ نيوكليوتيدات وان اتجاه الالتفاف يكون باتجاه اليمين ويعرف هذا النوع من الدنا بالدنا من النوع B وهو النوع الشائع للدنا ،وهناك انواع اخرى من الدنا هي A و Z تختلف عن النوع الاول بعدد النيوكليوتيدات في اللفة الواحدة واتجاه الالتفاف.

ترتبط سلسلتا الحلزون مع بعضهما البعض عن طريق الأواصر الهيدروجينية المتكونة بين القواعد النيتروجينية. اذ يزدوج الأدنين مع الثايمين لاصرتين هيدروجينيتين والكوانين مع السايتوسين بثلاث أواصر هيدروجينية. وان هذا النوع من الارتباط القاعدي هو الترتيب الممكن

الوحيد حيث يحتاج ارتباط قاعدتين من البيورين الى مساحة واسعة تؤثر على انتظام الحلزون وان المساحة اللازمة لارتباط قاعدتين من البايرمدين تكون اقل مما يؤدي الى نفس التأثير على انتظام الحلزون .

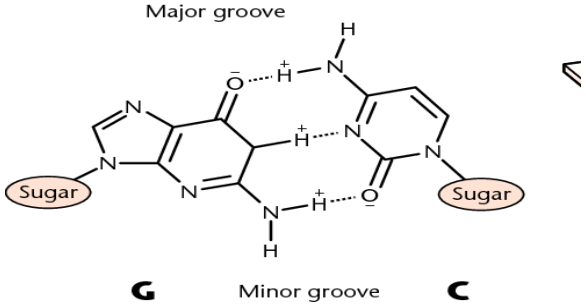


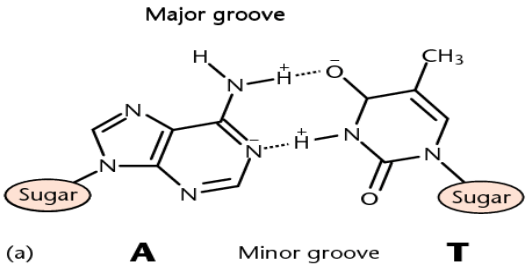
تعد خاصية الازدواج القاعدي من أهم صفات حلزون الدنا المزدوج حيث ينتج عنها علاقة تكاملية بين تتابعات القاعد في السلسلتين، فعلى سبيل المثال اذا كان التتابع لأحد شريطي الدنا هو ATGTCA فان التتابع على الشريط الأخر سيكون TACAGT ، وعلى هذا الأساس فان سلسلتي الحلزون ستكونان متخالفتين في القطبية اي انهما تتجهان باتجاهين متعاكسين احدهما باتجاه 5' ⟵ 3' والاخر باتجاه 3' ⟵ 5' . ويكفي احيانا كتابة القواعد لسلسلة معينة على اساس ان تتابع القواعد للسلسة الاخرى يمكن استنتاجه بسهولة اعتمادا على قاعدة واطسن وكريك.



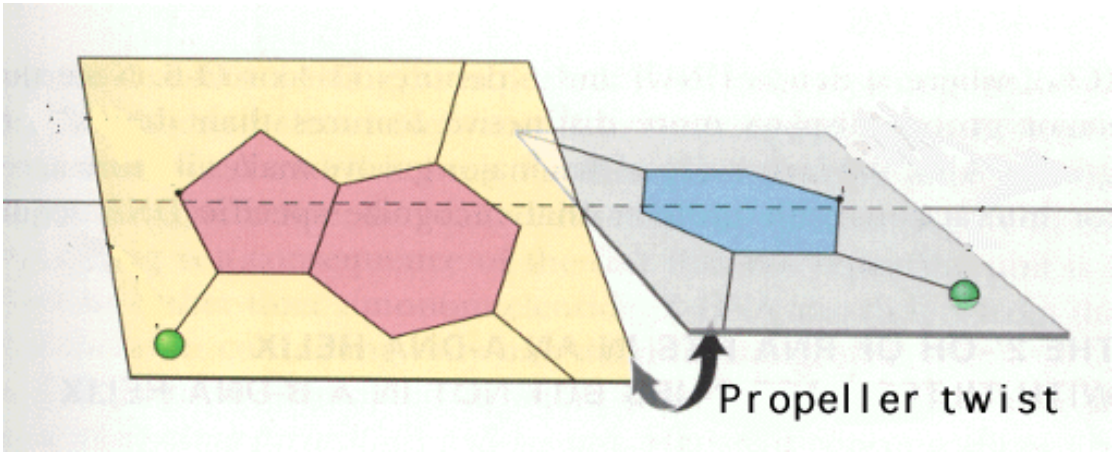
يترتب على قاعدة الازدواج القاعدي ان تكون كل من نسبة A الى T ونسبة G الى C متساوية في كل جزيئة الدنا، إلا إن نسبة (A+T) الى نسبة (C+G) تكون مختلفة بين جزيئات الدنا. تكون نسبة (A+T) اعلى من نسبة (G+C) في الحيوانات والنباتات الراقية وتكون هذه النسبة مختلفة في البكتريا والنباتات الواطئة. وتعد نسبة (A+T) الى نسبة (C+G) ذات أهمية تشخيصية في تصنيف الكائنات حسب درجة القرب والبعد لهذه النسبة.

من الصفات المهمة لجزيئة الدنا هو موقع ذرات الهيدروجين في البيورين والبايرميدين حيث تتحرك ذرات الهيدروجين بين ذرات الاوكسجين والنيتروجين المكونة للاصرة بين شؤيطي الحلزون بحركة تسمى **التبادل التوتوموري Tautomeric shift** ، تساهم هذه الحركة في المحافظة على اواصر هيدروجينية مستقرة جدا وهذا بدوره يساهم في استقرار جزيئة الدنا وضمان حدوث الازدواج بصورة صحيحة بين القواعد المتكاملة وبالتالي ضمان تكامل الشريطين مع بعضهما.





إن القاعديتن المتكاملتين (البورين والبايرميدين) لا تقعان على نفس المستوي السطحي وإنما تظهر ما يسمى بالالتواء المروحي propeller twist الذي يساهم في استقرار تركيب الشكل الحلزوني وان زاوية الالتواء هذه تتباين وقد تصل إلى ٤٥ درجة وذلك عن طريق حركتهما بشكل متعاكس واحدة إلى الأعلى والأخرى إلى الأسفل وبذلك تساهم في استقرار الشريط الحلزوني .



تقاس الأوزان الجزيئية للدنا بالدالتون Dalton وان معدل الوزن الجزئيئ لزوج من النيوكليوتيدات والذي يسمى بالزوج القاعدي Base pair (bp) هو 660 دالتون، اما طولها فيقاس بعدد الازواج القاعدية ، فطول قطعة الدنا المكونة من 10000 زوج قاعدي هي 10 كيلو زوج قاعدي 10Kpb حين ان الكيلو زوج قاعدي يساوي 1000 زوج قاعدي.

عند تعرض الحلزون المزدوج الى درجات حرارة عالية تقترب من ١٠٠ درجة مئوية تتكسر الأواصر الهيدروجينية بين القواعد النيتروجينية والتي تربط السلسلتان مع بعضهما ويبتعد الخيطان المتكاملان عن بعضهما وتسمى هذه العملية بالمسخ DNA Denaturation . وبما ان G ترتبط مع C بثلاث اواصر فان الحرارة اللازمة لفصل خيوط الدنا الغنية بـ (G+C) تكون اعلى من تلك الغنية بـ (A+T). لخيوط الدنا القدرة على إعادة الارتباط عند التبريد البطيء لمحلول الدنا الممسوخ حيث تسمح هذه العملية بالتقاء الخيوط المفردة المتكاملة ثم ارتباطها معاً عن طريق تكوين الأواصر الهيدروجينية بين الأزواج القاعدية لإعادة تكوين الحلزون المزدوج. يمكن استغلال هذه العملية في تصنيع جزئيات دنا هجينة Hybrid DNA عن طريق التبريد البطيء لخليط خيوط الدنا الممسوخة المشتقة من نوعين مختلفين من الكائنات الحية ويمكن بهذا الاستفادة من هذه التقنية في إيجاد التشابه الوراثي بين المجاميع التصنيفية المختلفة .

تكون جزئية الـ RNA مشابهة لجزيئة الـ DNA باستثناء بعض الاختلافات وهي :-

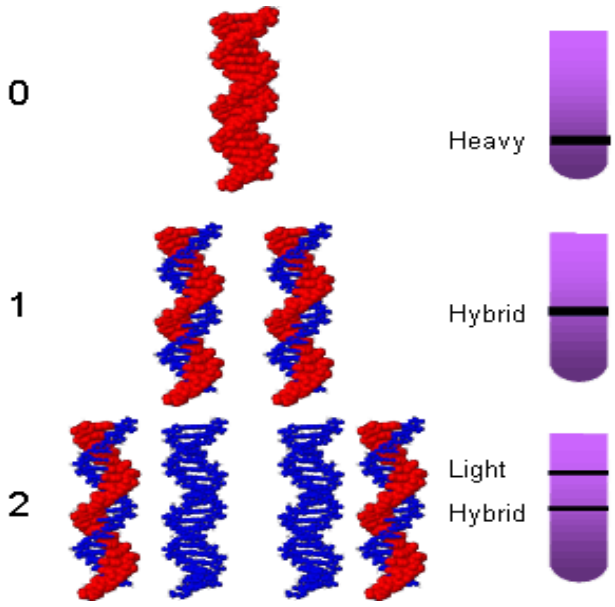
١- السكر الخماسي الذي يدخل في تركيب الـ RNA هو من النوع السكر الرايبوزي.
٢- يدخل اليوراسيل في تركيب النيوكليوتيدات بدلا من الثايمين.
٣- تكون جزيئة الـ RNA بصورة عامة على شكل خيوط منفردة .

تضاعف الدنا DNA Replication

من اجل ان تقوم جزيئه الدنا بنقل المعلومات الوراثية بصورة دقيقة لا بد لها ان تتضاعف بصورة غير قابلة للخطأ وبشكل يؤمن حصول الجيل اللاحق على نفس الكمية والنوعية من المعلومات الوراثية الموجودة في الجيل السابق (الآباء). وقد قدم واطسن وكريك مقترحا لطريقة تضاعف الدنا بعد شهر واحد من تقديمهم للنموذج الحلزوني المزدوج لجزيئة الدنا ، تفترض هذه النظرية على ان خيطي الدنا الاصلي ينفصلان عن

بعضهما البعض في بداية عملية التضاعف ويكون كل خيط قالبا لتخليق خيط جديد مكمل للخيط الأصلي حسب قاعدة الازدواج القاعدي لينتج عن ذلك خيطان حلزونيان مشابهان للخيط الحلزوني الأصلي ، يتكون كل منهما من خيط ابوي قديم (ابوي) وأخر جديد (بنوي) . سُميت هذه الطريقة بطريقة التكرار شبه المحافظ Semi-conservative replication . وتم إثبات هذه الفرضية عن طريق تجربة قام بها العالمان مسيلسون وستال عام ١٩٥٨ والتي اكدت على ان جزيئات الدنا ذات الكثافات المختلفة تكون حزماً في مواقع مختلفة تتناسب مع كثافاتها عند طردها مركزيا بسرعة فائقة في محلول متدرج الكثافة.

تضمنت التجربة تنمية بكتريا *E. coli* في وسط زرعي حاوي على النظير الثقيل للنيتروجين (N^{15})كمصدر وحيد للنيتروجين وبهذا ستكون كل مكونات الخلية بما فيها الدنا الخلوي الحاوية على النيتروجين اثقل من تلك التي تحتوي على نيتروجين عادي (N^{14}) حيث يمن التفريق بينهما باستخدام الطرد المركزي بسرعة ٤٥ ألف دورة في الدقيقة لمدة ٤٨ ساعة في محلول متدرج الكثافة من مادة كلوريد السيزيوم CsCl . قام الباحثان بتنمية البكتريا ولعدة اجيال في وسط زرعي يحتوي على كلوريد الامونيوم الذي يدخل في تركيبه النيتروجين الثقيل N^{15} وبهذا ستكون جزيئات الدنا في جميع الخلايا من النوع الثقيل وقد كونت الدنا المعزول من هذه الخلايا بعد طردها مركزيا في محلول كلوريد السيزيوم حزمة واحدة في المكان المتوقع للدنا الحاوية على N^{15} . بعد ذلك تم نقل البكتريا الى وسط زرعي حاوي على النيتروجين N^{14} مصدر وحيد للنيتروجين وبعد الجيل الاول (عملية تكرار واحدة) وتم عزل الدنا من بكتريا الجيل الاول وتم طردها مركزيا فكونت حزمة واحدة في محلول كلوريد السيزيوم تتوسط كثافتها بين N^{14} و N^{15} مما يدل على ان احد خيطي الحلزون المزدوج يحتوي على N^{14} والخيط الاخر يحتوي على N^{15} ، وان الدنا المعزول من الجيل الثاني للبكتريا النامية على الوسط الحاوي على N^{14} قد كونت حزمتين الاولى (وتمثل نصف الكمية) ذات كثافة مماثلة للدنا الهجينة ($N^{15} - N^{14}$) في حين كانت الحزمة الثانية ذات كثافة مشابهة لكثافة الـ N^{14} اما الدنا المعزول من الجيل الثالث فقد كونت حزمتين غير متماثلتين في السُمك ، أظهرت الاولى والتي تمثل ٢٥% من كمية الدنا كثافة مماثلة للدنا الهجينة ($N^{15} - N^{14}$) اما الثانية وتمثل ٧٥% فكانت مشابهة لكثافة الدنا N^{14} ، اثبتت هذه التجربة وبصورة قاطعة نظرية التكرار شبه المحافظ في عملية تضاعف الدنا وان كل المادة الوراثية لكل الكائنات تتضاعف بهذه الطريقة .


0
Heavy
1
Hybrid
2
Light
Hybrid